

# P糖蛋白の血液－脳関門及び脳腫瘍の細胞膜透過性 に対する効果

研究代表者	山嶋 哲盛
雑誌名	平成4(1992)年度 科学研究費補助金 一般研究(B) 研究成果報告書
巻	1991-1992
ページ	7p.
報告年度	1993-03
研究課題番号	03454347
URL	<a href="http://doi.org/10.24517/00048944">http://doi.org/10.24517/00048944</a>



KAKEN

1992  
28

# P糖蛋白の血液-脳関門及び脳腫瘍 の細胞膜透過性に対する効果

(研究課題番号 03454347)

平成4年度科学研究費補助金(一般研究B)  
研究成果報告書

平成5年3月

研究代表者 山 嶋 哲 盛  
(金沢大学医学部 助教授)

## はしがき

本報告書は、平成3,4年度文部省科学研究費補助金(一般研究B)による「P糖蛋白の血液-脳関門及び脳腫瘍の細胞膜透過性に対する効果」(課題番号 03454347, 研究代表者, 山嶋哲盛)の研究成果をとりまとめたものである。

冒頭に、本補助金を交付頂いた文部省ならびに関係各位に深く感謝申し上げます。

### 研究組織

研究代表者 : 山嶋 哲盛  
(金沢大学医学部助教授)

### 研究経費

平成3年度	3,500	千円
平成4年度	2,900	千円
計	6,400	千円

---

## 研究発表

### (1) 学会誌等 (印刷中も含む)

1. Yamashima T, Ohnishi T, Nakajima Y, Terasaki T, Tanaka M, Yamashita J, Sasaki T & Tsuji A. Drug transfer and expression of P-glycoprotein in the rat brain capillary endothels and 9L glioma cells. Exp. Brain Res. (in press)

2. Tsuji A, Terasaki T, Takabatake Y, Tenda Y, Tamai I, Yamashima T, Moritani S, Tsuruo T & Yamashita J. P-glycoprotein as the drug efflux pump in primary cultured bovine brain capillary endothelial cells. Life Sci. 51:1427-1437, 1992

3. Hasegawa M, Yamashima T, Yamashita J, Suzuki M & Shimada S. Traumatic subdural hygroma: Pathology and meningeal enhancement on magnetic resonance imaging. *Neurosurg.* 31: 580-585, 1992
4. Takabatake Y, Yamashita J, Higashi S, Yamashima T & Yamamoto Y. Cerebral vasospasm with elevated creatine phosphokinase following surgery of unruptured arteriovenous malformation. *Neurochirurg.* 35:54-56, 1992
5. Suzuki M, Takashima T, Kadoya M, Ueda F, Yamashima T & Yamashita J. Gadolinium-DTPA enhancement of dural structures on MRI after surgery. *Neurochirurg.* 35: 112-116, 1992
6. Yamashima T, Tohma Y & Yamashita J. Expression of cell adhesion molecule E-cadherin in human arachnoid villi. *J Neurosurg* 77:749-756, 1992
7. Yamashima T, Tohma Y & Yamashita J. Expression of cell adhesion molecule: Epithelial-cadherin in meningiomas. *Brain Tumor Pathol.* 9:33-40, 1992
8. Tohma Y, Yamashima T & Yamashita J. Immunohisto- chemical localization of cell adhesion molecule epithelial cadherin in human arachnoid villi and meningiomas. *Can Res* 52: 1981-1987, 1992
9. Yamaguchi N, Yamashima T & Yamashita J. A histological and flow cytometric study of dog brain endothelial cell injuries in delayed radiation necrosis. *J Neurosurg.* 74:625-632, 1991
10. Suzuki M, Takashima T, Kadoya M, Konishi H, Kawamori Y, Ueda F, Tamura S, Yamamoto T, Kawahara K, Yamashima T & Yamashita J. Contrast enhancement of cystic portions in brain tumors on delayed image of gadolinium-DTPA-enhanced MR imaging. *Rad. Med.* 9: 14-18, 1991
11. Hasegawa M, Yamashima T, Yamashita J, Taguchi H & Uchiyama N. Freeze-fracture study of benign and malignant schwannomas. *Brain Tumor Pathol.* 9: 63-68, 1992
12. Hasegawa M, Yamashita J & Yamashima T. Anatomical variations of the straight sinus on magnetic resonance imaging in the infratentorial supracerebellar approach to pineal region tumors.

13. Hasegawa M, Taguchi H, Uchiyama N, Yamashima T & Yamashita J.  
Astroglial response to regenerating CNS neurons after the peroneal nerve  
grafting over the injured spinal cord in rats.

Adv. Neurotrauma Res. 3: 41-44, 1991

14. Yamashima T. Modern cranioplasty using hydroxyl-apatite ceramic  
granules, buttons and plates. Neurosurg. (in press)

## (2) 口頭発表

1. 山嶋哲盛, 中島良夫, 高畠靖志, 山下純宏, 大西俊正,  
寺崎哲也, 辻 彰, 田中基裕, 佐々木琢磨.

9 L グリオーマにおける抗癌剤の腫瘍内移行

第32回日本神経病理学会総会 (山形), 1991年5月

2. 山嶋哲盛, 立花 修, 山口成仁, 田口博基, 山下純宏.

悪性グリオーマに対するニトロソウレア剤の局所化学療法による神  
経毒性. 第32回日本神経病理学会総会 (山形), 1991年5月

3. 山嶋哲盛, 中島良夫, 高畠靖志, 山下純宏, 大西俊正, 寺崎哲  
也, 辻 彰, 田中基裕, 佐々木琢磨.

ラット 9 L グリオーマにおける抗癌剤の腫瘍内移行よりみた再発悪  
性グリオーマの治療の問題点.

第50回日本脳神経外科学会総会 (京都), 1991年10月

4. 山嶋哲盛, 山口成仁, 長谷川光広, 立花 修, 山下純宏.

A C N U 325mgの局注療法により5年以上生存した神経膠芽腫の1  
例. 第9回日光脳腫瘍カンファランス (和倉), 1991年10月

5. 高畠靖志, 立花 修, 山嶋哲盛, 山下純宏.

転移性脳腫瘍におけるP-glycoproteinの発現に関する免疫組織化学的  
研究. 第32回日本神経病理学会総会 (山形), 1991年5月

6. 高畠靖志, 立花 修, 山嶋哲盛, 山下純宏.

頭蓋内悪性胚細胞性腫瘍におけるP-glycoproteinの発現.

第1回間脳下垂体腫瘍研究会 (東京) 1991年6月

7. 高畠靖志, 山嶋哲盛, 山下純宏, 寺崎哲也, 天田由幸, 辻 彰.  
脳毛細血管内皮細胞におけるP-glycoproteinの働き.  
第29回日本癌治療学会総会 (大阪) 1991年10月

8. 高畠靖志, 山嶋哲盛, 山下純宏, 寺崎哲也, 天田由幸, 辻 彰.  
血液脳関門におけるefflux pumpとしてのP-glycoproteinの作用.  
第50回日本脳神経外科学会総会 (京都), 1991年10月

### (3) 出版物

1. 山嶋哲盛 「あなたの脳が危ない」 ごま書房 (池田昌行発行)  
1992年11月30日

2. 山嶋哲盛 「老人性痴呆はこうすれば治る」 文芸春秋  
1991年10月号 334-344 頁

3. 山嶋哲盛 「予兆なき悪魔・クモ膜下出血」 文芸春秋  
1992年4月号 380-390 頁

## はじめに

P糖蛋白は癌細胞の多剤耐性機構を分子生物学的に解明する過程で発見された分子量17万の膜蛋白で、種々の抗癌剤を腫瘍細胞外に排出する役割を果たす。薬剤の細胞外排出作用を持つP糖蛋白が脳内毛細血管に存在するということは、P糖蛋白がその関門機構と密接な関連を持つことを示唆している。悪性腫瘍に対して投与された化学療法剤は、全身癌では腫瘍細胞膜のみを透過すれば良いが、脳腫瘍ではまず血液-脳関門を、次いで腫瘍細胞膜を透過しなければならない。悪性脳腫瘍に対する化学療法の成績がきわめて悪い理由の一つは、薬剤がこの様な2重の関門を透過し得ず、たとえ透過したとしてもP糖蛋白により排出されるためと推定される。そこで、本研究においては、P糖蛋白が脳内毛細血管内皮細胞及び脳腫瘍の細胞膜透過性に及ぼす影響について、薬物動態学的、生化学的及び免疫組織化学的な検索を行った。

## 方法

ラットの脳に $1.5 \times 10^5$ 個の9 Lグリオーマ細胞を定位脳的に移植した後2週間目に、(1)ラジオアイソトープでラベルした薬剤を頸動脈内に注入し、5秒間での脳内及び9 Lグリオーマ内への移行を液体シンチレーションカウンターにより測定し、Oldendorfらの方法により解析した。さらに、(2)薬剤を細胞外に排出することで癌細胞の多剤耐性に関与するP-糖蛋白の有無を、C-219モノクローナル抗体を用いて脳内毛細血管、腫瘍内血管及び腫瘍細胞膜において免疫組織化学的に検索し、同時に、(3)これらの超微構造との関連を検索した。

## 結果

結果は、7頁以降に英文論文(Exp Brain Resに掲載予定で現在印刷中)としてまとめたものを示すが、その要旨は以下の如くである。

(1)血液-脳関門を移行しないはずのシュクロース(コントロール)は9 Lグリオーマ内に脳内への取り込みの5倍移行した。MCNUと5-FU、アドリアマイシンはシュクロースと同様に正常脳内へはほとんど移行しなかったが、ACNUはシュクロースよりは有意に多く移行した。MCNUとアドリアマイシンはコントロールであるシュクロースと同様、腫瘍内には十分に取り込まれたが、9 Lグリ

オーマ細胞内へはほとんど取り込まれなかった。これに対し、ACNUと5-FUは腫瘍細胞内にも著明に取り込まれた。5-FUの培養9 Lグリオーマ細胞内への移行は、ATP阻害剤や4℃の培養液中で著しく減少した。(2)脳内毛細血管の内皮細胞と9 Lグリオーマの腫瘍細胞膜においては免疫組織化学的にP-糖蛋白の発現がみられたが、腫瘍内血管の内皮細胞にはみられなかった。そして、(3)腫瘍内血管の内皮細胞には電顕的に多数のfenestrationや内皮細胞の腫大、及び内皮細胞間隙の開大等が観察された。

以上より、MCNUや5-FU、アドリアマイシンの脳内への移行のみならず、MCNUやアドリアマイシンの9 Lグリオーマ細胞内への移行は、それぞれ脳内毛細血管内皮細胞膜と腫瘍細胞膜に発現したP-糖蛋白による細胞外排出の為制限されているものと推定された。また、ACNUが脳内毛細血管内皮細胞膜や9 Lグリオーマ細胞膜を透過するのはおそらくその高脂溶性によるものであるのに対し、5-FUの透過は何らかのキャリアー蛋白が関与しているものと推定された。